Aus dem Medizinischen Strahleninstitut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. W. Frommhold

CLONBILDUNG VON HELA–ZELLEN NACH GETRENNTER UND KOMBINIERTER ANWENDUNG VON TESTOSTERON UND RÖNTGENSTRAHLEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Helmut Kapp
aus Tübingen

1974

Aus dem Medizinischen Strahleninstitut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. W. Frommhold

CLONBILDUNG VON HELA–ZELLEN NACH GETRENNTER UND KOMBINIERTER ANWENDUNG VON TESTOSTERON UND RÖNTGENSTRAHLEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Helmut Kapp
aus Tübingen

1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan : Professor Dr. E. Körber

1. Berichterstatter : Professor Dr. K. W. Peters

2. Berichterstatter : Professor Dr. W. Frommhold

FOTO - SCHNELLDRUCK Hans - Joachim Köhler - 74 TÜBINGEN - Neue Strasse 11

Für die Arbeitsmöglichkeit am Medizinischen Strahleninstitut bin ich Herrn Professor Dr. med. W. Frommhold zu Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. K. Peters danke ich nicht nur für die Themenstellung, sondern ganz besonders für die Anordnung und Durchführung der Experimente und die Überlassung der fertigen Präparate zur Auswertung der Ergebnisse. Ferner danke ich ihm für seine stetige Hilfe bei Auswertung, Literaturstudium und Zusammenstellung der Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	Seite 1
Material und Methode	Seite 3
Ergebnisse und Diagramme	Seite 5
Diskussion und kurze Literaturübersicht	Seite 17
Zusammenfassung	Seite 30
Literaturverzeichnis	Seite 31

Einleitung

Seit einigen Jahren werden hormonabhängige Tumoren nicht nur radiologisch und cytostatisch behandelt, sondern es wird versucht, Primärtumor und Metastasen durch Eingriffe in den Hormonhaushalt der Patienten in ihrem Wachstum zu hemmen.

Als hormonabhängige Tumoren werden das Prostata- und das Mammacarcinom angesehen (GROPP u. WOLF 1964, 1965). Dabei ist die gegengeschlechtliche Hormontherapie beim Prostatacarcinom allgemein anerkannt (HANSCHKE, KÖNIG, KASPAR 1968). Die Behandlung des Mammacarcinoms mit Testosteron dagegen führt häufig nicht zu der erwarteten Besserung. Über mehrere Jahre war man der Ansicht, auf Grund der Geschlechtschromatinbestimmungen mittels der sogenannten Barr' schen Körperchen der Zellen (BARR u. BERTRAM, 1949) Mammatumoren mit Testosteron differenzierter angehen zu können. So zeigten EHLERS und HIENZ (1958), daß es gerade beim Mammakarcinom zu einer geschlechtlichen Diskrepanz zwischen Tumorgewebe und Tumorträger kommen kann, und es zeigte sich weiter, daß es gerade die männlichen Tumoren waren, die auf die Behandlung mit männlichem Geschlechtshormon und eventueller Ovarektomie nicht ansprachen, sondern eher eine Verschlechterung aufwiesen. Doch auch diese Ergebnisse blieben nicht unwidersprochen (BOHLE, BÜRGER, FISCHBACH, SCHÖLL 1965). Deswegen ist es wichtig zu wissen, daß es sich bei unseren Zellen um einen praktisch Barr-negativen Stamm handelte. Die Häufigkeit Barr-positiver Zellkerne lag bei 7, 2 %. Nach FARK (1968) war das Geschlecht der Zellen weder durch Testosteron, Progynon noch Bestrahlung zu beeinflussen. Trotz dieser Befunde konnten von FRÖHLICH (1970) und SCHAARSCHMIDT (1971) in Kurzzeitkulturen durch Behandlung mit Testosteron eine Abnahme der Mitosen, Zytolysen und Pyknosen erreicht werden, die sich durch Kombination mit Bestrahlung noch steigern ließ. Aus diesen Befunden folgerten PETERS und BAUER (1970), daß Barr-negative Karzinomzellen in vitro durch-

aus auf Testosteron ansprechen und daß somit von SEEBACH und MÜLLER (1966) sowie LÜCHTRATH (1969) in ihrer Annahme bestätigt werden, daß das Vorkommen von Barr' schen Körperchen keine prognostischen oder therapeutischen Konsequenzen hat.

Von Interesse schien es nun, den Einfluß von Testosteron über mehrere Zellgenerationen zu verfolgen, da auf diese Weise die Aussagemöglichkeit im Vergleich zu Kurzzeitkulturen wesentlich gesteigert werden kann. In der vorliegenden Arbeit wurden unter Verwendung der Puck' schen Methode (PUCK u. MARCUS 1956) aus Einzelzellen Clone gezüchtet und der Einfluß von Testosteron und Röntgenbestrahlung auf die Clonbildung untersucht.

Material und Methode

Zu unseren Versuchen verwendeten wir Karzinomzellen vom Stamm HeLa. GEY und seine Mitarbeiter haben diesen Zellstamm im Jahr 1951 bei Versuchen isoliert, die zur Ermittlung des Wachstumspotentials normaler und karzinomatöser Zervixzellen dienten. Seither werden diese Zellen in vitro weitergezüchtet. Charakteristisch ist ihr epithetiales Wachstum; die oft mehrkernigen Riesenzellen fallen auf; neben normalen Mitosen sieht man mehrpolare und gestörte Teilungsformationen (PETERS 1958).

Bei der Anlage von Feederzellen wurden 2×10^5 Zellen in Petrischalen von 5 cm Ø ausgesät, die nach zwei Tagen einen geschlossenen Rasen gebildet hatten. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Zellen mit 2 000 R Rö bestrahlt. Unmittelbar danach erfolgte Zufütterung von 1×10^3 Zellen pro Kulturschälchen, die für die Clonbildung bestimmt waren.

Bei sämtlichen ohne Feederzellen durchgeführten Versuchen wurden zwischen 2×10^2 und 2×10^3 Einzelzellen in die Zuchtschalen explantiert. Außerdem wurden jeder Schale 5 ml Medium (DMEM) als Konditionsmedium zugesetzt. Die Zellen wurden durchschnittlich am 6. Tag nachgefüttert. Am 9. Tag nach der Zellaussaat bzw. nach der Bestrahlung wurden die Zellen fixiert und zur Zellzählung präpariert.

Das Medium wurde mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen, danach wurden die Zellen 15 Minuten lang in Bouin fixiert und anschließend mehrmals mit 70 %igem Alkohol gespült. Nach einer Behandlung mit Aqua dest. wurde für 15 Minuten in Hämalaun nach Mayer gefärbt. Anschließend wurden die Präparate mit Leitungswasser gespült. Mit Wasser überschichtet oder eingebettet in Polyvinylpyrrolidon wurden die Zellen gezählt.

Die Auswertung der Präparate erfolgte mit dem Zeiss-Opton bei 63-facher Vergrößerung (Okular 25, Lupenobjektiv 2, 5). Zur Auszählung gelangte das gesamte Areal der Kulturschälchen 50 mm Ø), wobei die Zahl der Clone wie die Zellzahl pro Clon registriert wurden.

In den Bestrahlungsversuchen wurden die zur Clonbildung bestimmten Zellen mit 100, 200, 300 und 400 R Röntgen (220 kV, 14 mA, 0, 5 mm Cu, FHA 40 cm) bestrahlt.

Das Testoviron T (Schering) wurde in Propylenglykol gelöst und in Verdünnungen von 1 : 50 000 000, 1 : 5 000 000 und 1 : 500 000 dem Wachstumsmedium bei Aussaat der Zellen zugegeben. Bei den Kombinationsversuchen wurde Testoviron in einer Konzentration von 1 : 5 000 000 (5 µg/ml) verwendet.

Die Versuche gliederten sich wie folgt :

Vorversuche:

1) Clonbildung mit Feederzellen (Versuche I, II, III)
2) Clonbildung ohne Feederzellen (Versuche IV, V)
3) Clonbildung mit Bestrahlung (Versuche VI, VII)
4) Beziehung zwischen Zelleingangszahl und Clonbildung

Hauptversuche :

1) Einfluß von Testoviron-T-Schering auf die Clonbildung (Konzentrationsversuch) (Versuch VIII)
2) Clonbildung nach Einfluß von Testosteron und Bestrahlung (Versuch IX)

Ergebnisse und Diagramme

Vorversuche :

1) Clonbildung mit Feeder-Zellen.

In den Vorversuchen I, II und III untersuchten wir die Clonbildung von HeLa-Zellen auf einem Rasen von Feeder-Zellen. (siehe Methodik Seite 3) Es zeigte sich, daß innerhalb von 8 Tagen 400 bis 500 Clone mit mehr als 5 Zellen gebildet wurden. Wie die graphische Darstellung Nr. 1 auf Seite 9) zeigt, liegt die am häufigsten auftretende Clongröße bei einer Zellzahl zwischen 10 und 25. Mit zunehmender Zellzahl pro Clon nimmt die Häufigkeit der Clone ab.

2) Clonbildung ohne Feeder-Zellen.

In den Vorversuchen IV und V wurde untersucht, wie die Clonbildung ohne ernährenden Zellrasen verläuft (siehe Methodik Seite 3). Dazu wurden im Versuch IV 10^3 Zellen explantiert. Durchschnittlich wuchsen in jeder Kultur 442 Zellen an, die eine Clongröße von mindestens 5 Zellen erreichten. Bei 152 Clon fand man mehr als 50 Zellen. 60 mal überstieg die Clongröße die Zellzahl von 100 (siehe Abb. 4 Seite 12).

Im Vorversuch V wurden nur 3×10^2 Zellen ausgesät. Von diesen kamen pro Kulturschale durchschnittlich 131 zur Teilung. 6 Clone erreichten das 50-Zell-Stadium. 2 Zellen wuchsen zu Clonen mit mehr als 100 Zellen heran.

Betrachtet man die dazugehörigen Diagramme Nr. 2 bis Nr. 4 auf den Seiten 10/12, so sieht man, daß der Gipfel der Mittelwertskurve bei der Versuchsreihe mit der größeren Zelleneingangszahl (Vorversuch IV) zwischen 10 und 25 liegt, während die Häufigkeitsmaxima bei den Kulturen, die nur mit 3×10^2 Zellen beschickt worden waren,

bei 5 Zellen pro Clon liegen (Vorversuch V). Es fällt auch auf, daß der Kurvenverlauf im zweiten Fall wesentlich steiler ist als im ersten.

Da die Clonbildung ohne Feeder-Zellen erfolgreich verlief, wurde in allen weiteren Versuchen auf eine Anlage von Feederzellen verzichtet.

3) Clonbildung mit Bestrahlung :

In den Versuchen VI und VII wurde der Einfluß von 100 bis 400 R Röntgenstrahlen auf die Clonbildung untersucht. Zur Aussaat gelangten 2×10^2 Zellen. Aus den Diagrammen Nr. 5 auf Seite 13 zeigt sich, daß bei beiden Versuchen mit steigender Röntgendosis ein zunehmender Abfall der einzelnen Clongrößen zu verzeichnen ist.

Registriert wurden :

a) die Gesamtclonzahl,
b) die Zahl der Clone mit mehr als einer Zelle,
c) die Zahl der Clone mit mehr als 50 Zellen und
d) die Zahl der Clone mit mehr als 100 Zellen.

Die eingetragenen Werte sind jeweils Mittelwerte aus zwei Kulturen.

4) Beziehung zwischen Zelleingangszahl und Clonbildung :

Aus technischen Gründen wurde in den verschiedenen Versuchen die Zelleingangszahl variiert. In dem Diagramm Nr. 6 auf Seite 14 wurde das Verhältnis der Clonzahl und Clongröße in Abhängigkeit von der Zelleingangszahl aufgetragen. Es zeigte sich, daß Clone mit großen Zellzahlen nur in den Kulturen mit großen Zelleingangszahlen auftraten. (Das Zahlenmaterial setzt sich zusammen aus den

Werten der Vorversuche I bis V und aus den Kontrollkulturen der Versuche VI bis IX).

Hauptversuche :

1) Einfluß von Testosteron auf die Clonbildung :

Im ersten Hauptversuch sollte geklärt werden, welchen Einfluß Testoviron-T-Schering auf die Clonbildung hat. In verschiedenen Konzentrationen: 1 : 500 000, 1 : 5 000 000 und 1 : 50 000 000 wurde das Hormon dem Medium zugesetzt. Es kamen 1×10^3 Zellen zur Aussaat. Als Kontrollen und für jede Konzentration wurden je zwei Kulturen gezüchtet.

In der graphischen Darstellung Nr. 7 auf Seite 15 wurde das Verhältnis der Clonzahlen in den behandelten Kulturen zu den Clonzahlen in den Kontrollen gegen die Hormonkonzentration aufgetragen. Man sieht, daß Testoviron T bei einer Konzentration von 1 : 50 000 000 die Clonbildung geringfügig anregt (um 5 %); bei einer Konzentration von 1 : 5 000 000 die Clonbildung dagegen um 20 % und bei einer Konzentration von 1 : 500 000 die Clonbildung um 75 % hemmt. Das bedeutet zunehmende Hemmung mit steigender Konzentration.

2) Clonbildung nach Einfluß von Testosteron und Bestrahlung :

In diesem Versuch wurde der Einfluß alleiniger Bestrahlung auf die Clonbildung und der Einfluß der mit Testoviron kombinierten Bestrahlung miteinander verglichen. Kontrollen mit und ohne Testosteron lieferten die Ausgangswerte. Jeder Testwert bezieht sich auf zwei Kulturen. Die Strahlendosis lag im Bereich von 100 - 400 R. Es kamen 2×10^3 Zellen zur Aussaat. Testoviron wurde dem Medium in einer Verdünnung von 1 : 5 000 000 zugesetzt.

Graphisch veranschaulicht wird das Versuchsergebnis in dem Diagramm Nr. 8 auf Seite 16.

Die Kombination von Testosteron mit Röntgenstrahlen führt an Hand der Dosiseffektkurve zu dem gleichen Clonbildungsverlauf wie nach alleiniger Bestrahlung. Werden an Stelle der Relativwerte die wirklichen Wachstumsverhältnisse dargestellt (NB bezogen auf NoA=100 %), so zeigt sich, daß die durch Testosteron induzierte Wachstumshemmung sich zu der durch die Bestrahlung hervorgerufenen Hemmung addiert.

Abb. 1

Clonbildung mit Feederzellen

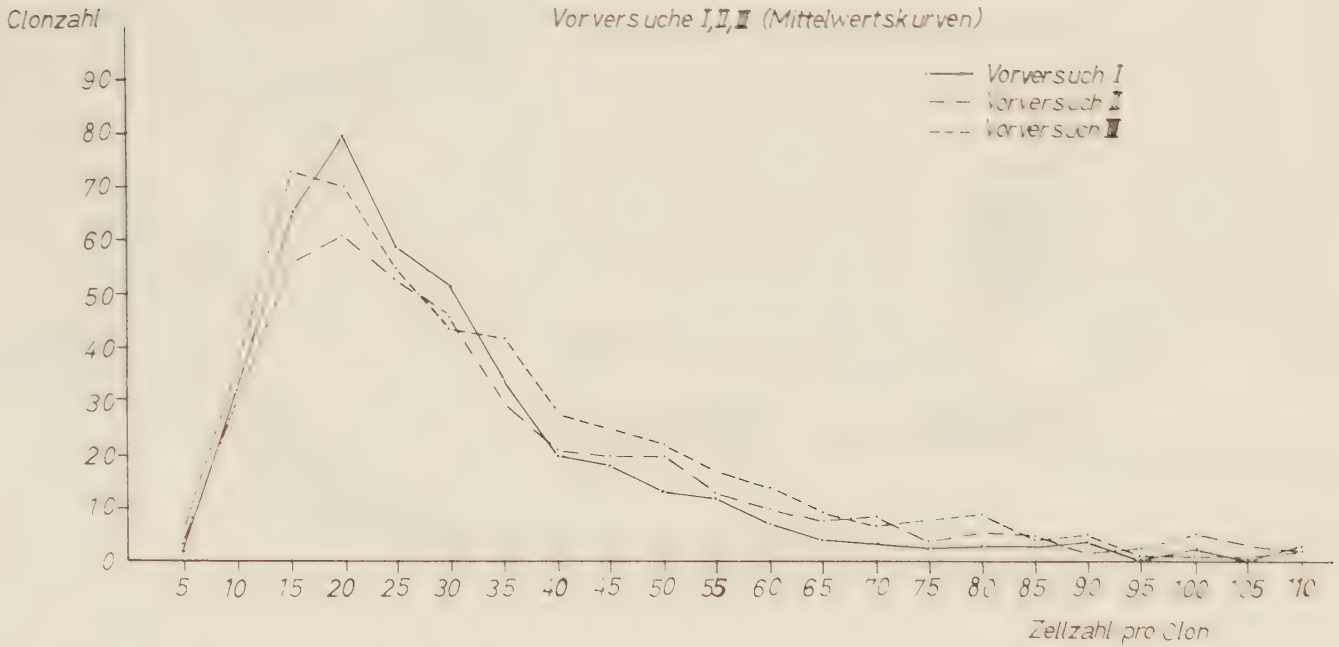


Abb. 2

Clonbildung ohne Feederzellen

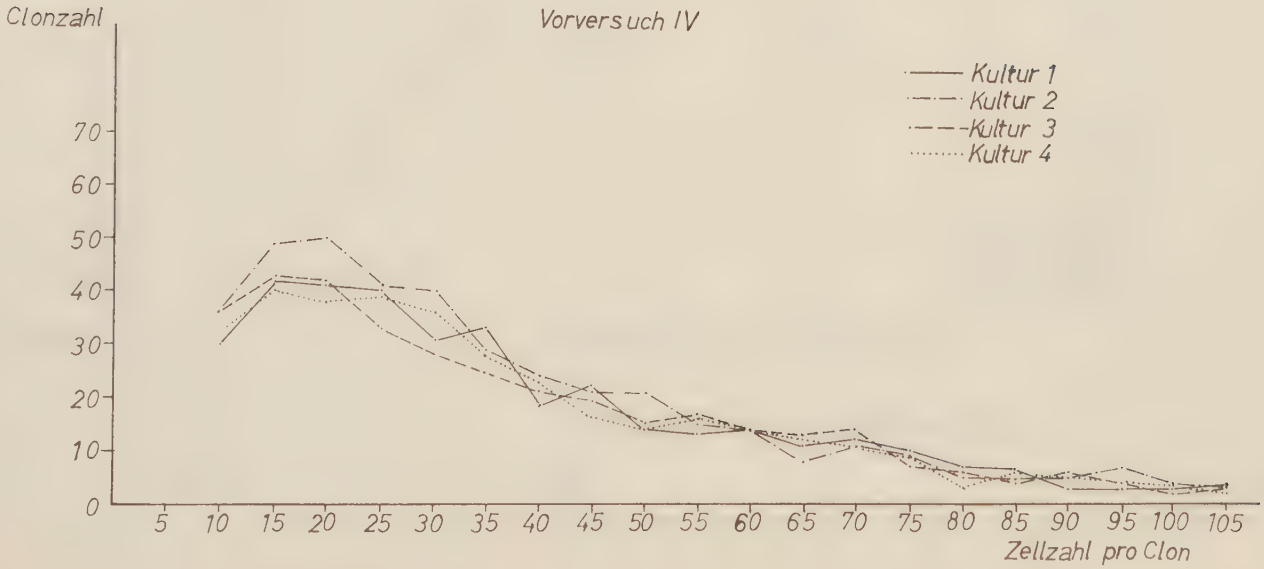


Abb. 3

Clonbildung ohne Feederzellen

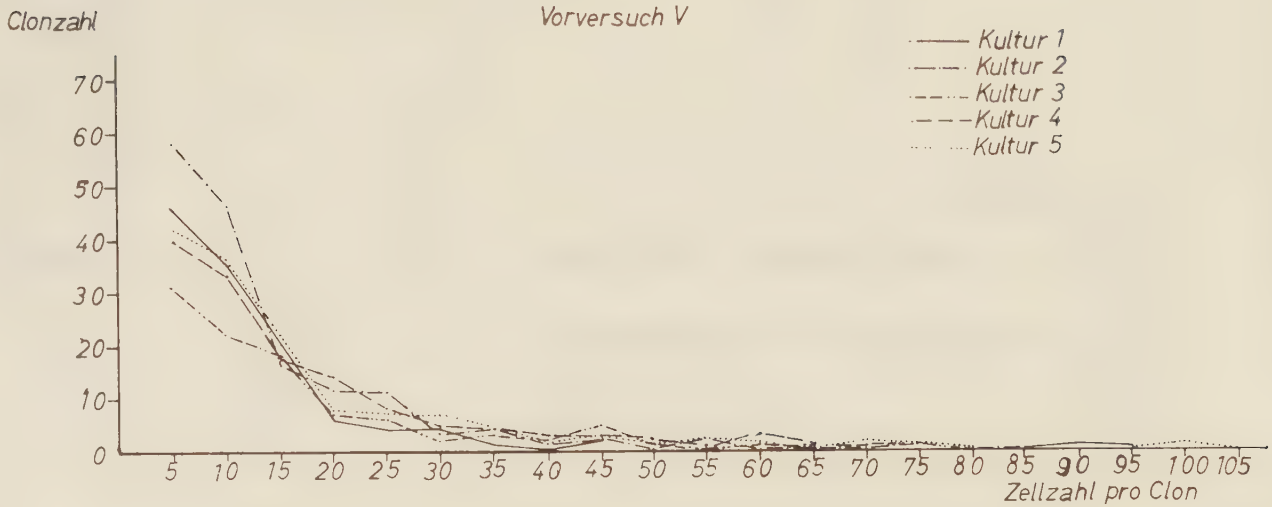


Abb. 4

Clonbildung ohne Feederzellen

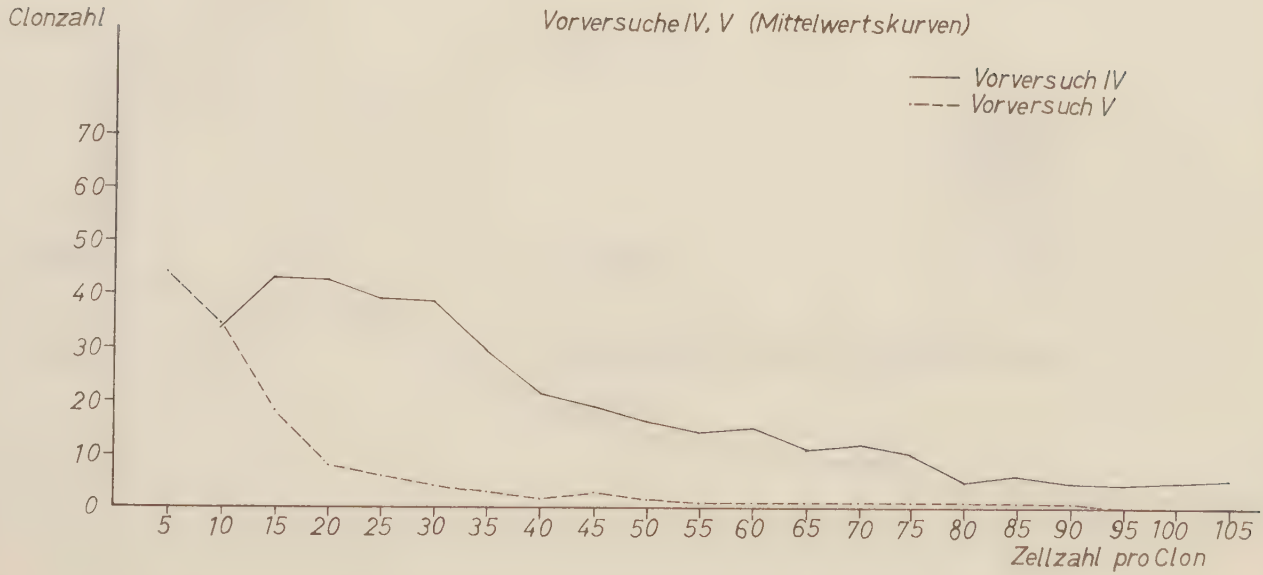
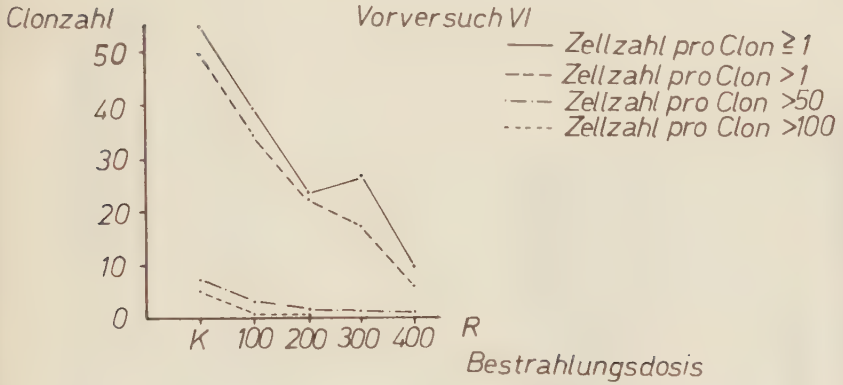
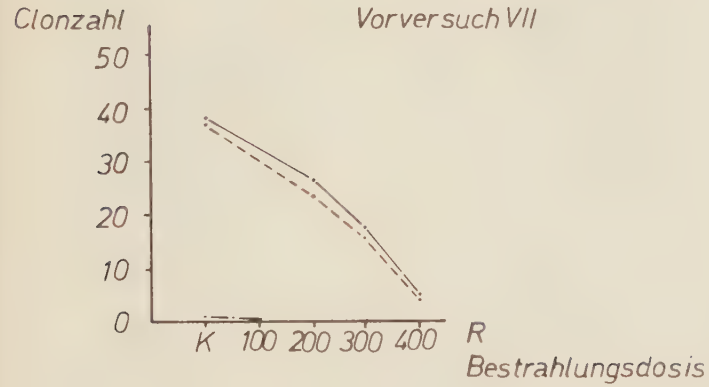


Abb. 5 Clonbildung nach Bestrahlung





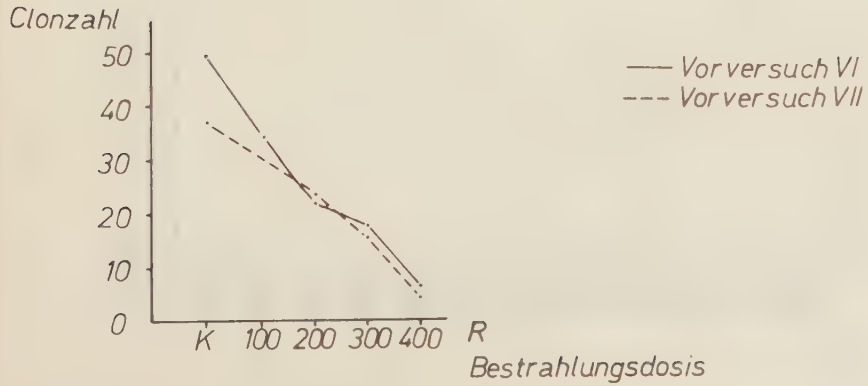


Abb. 6

Clonbildung bei verschiedenen Zelleingangszahlen

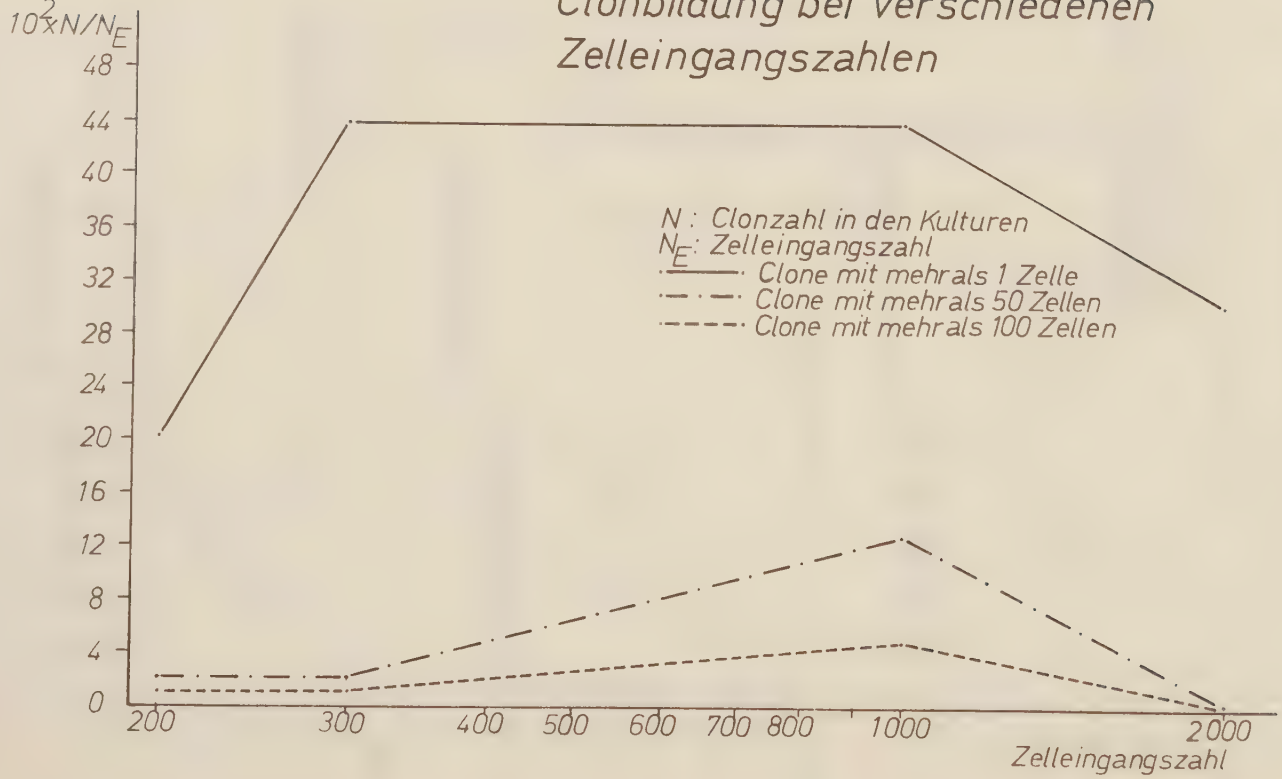


Abb. 7 Clonbildung nach Hormonzusatz

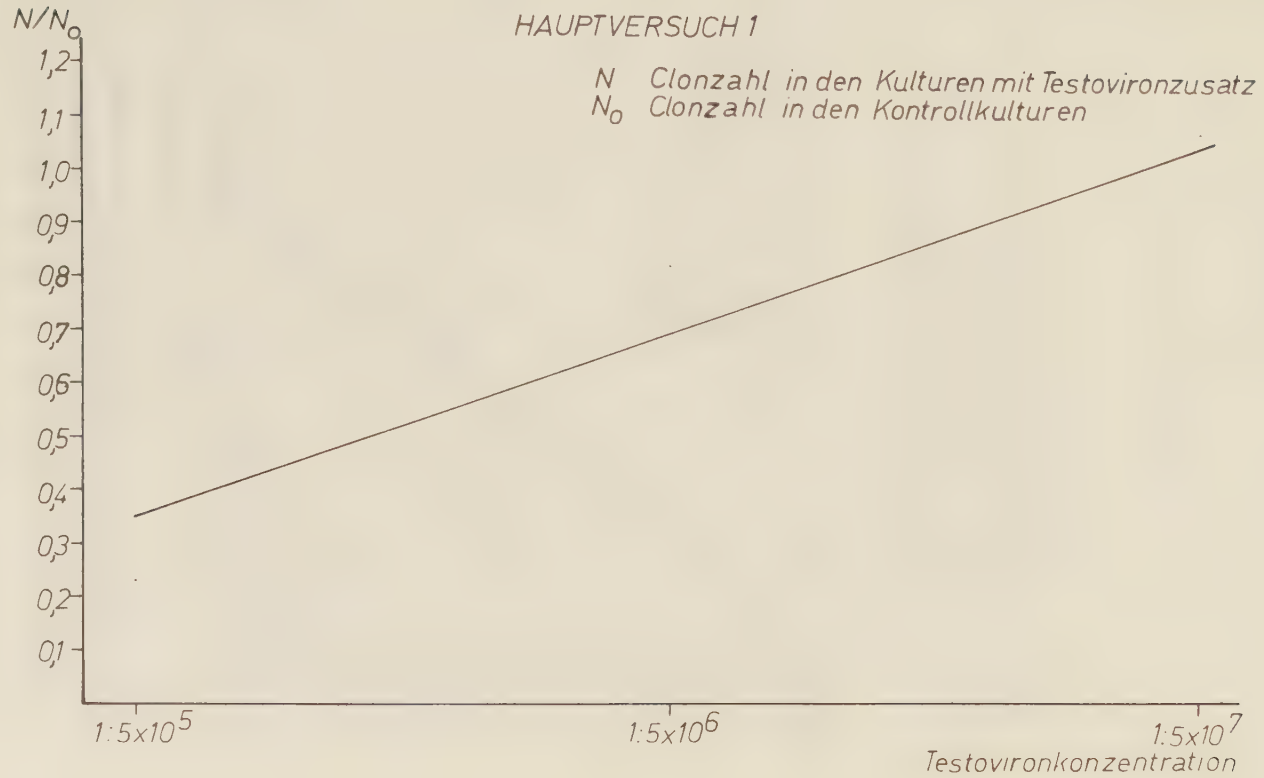
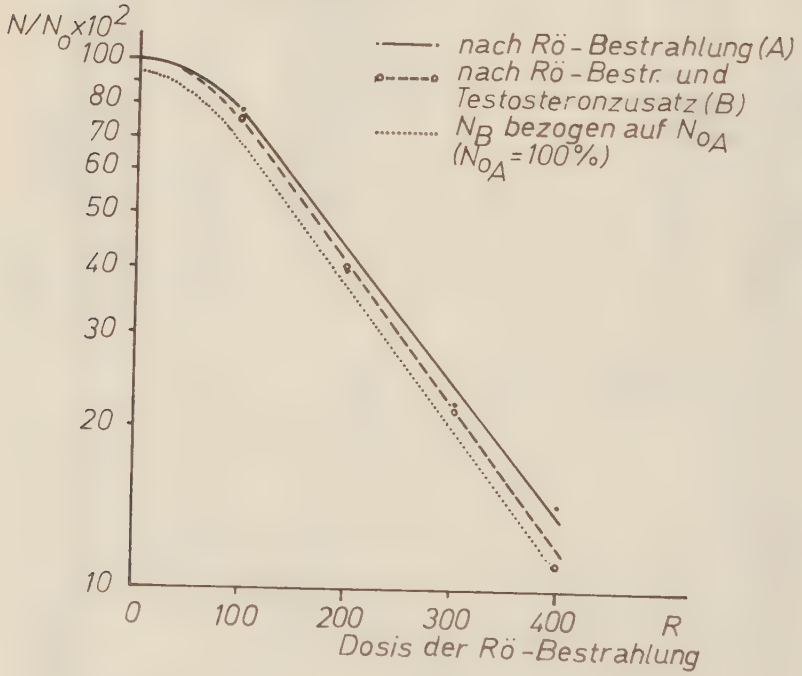


Abb. 8

Clonbildung nach Hormongabe und Röntgenbestrahlung

HAUPTVERSUCH 2



Diskussion
und
kurze Literaturübersicht

Über die Wirkung von Steroiden auf die Zelle wird schon seit langem gearbeitet. So konnten von MÖLLENDORF (1939, 43), BULLOUGH (1950), RIVERA (1963),RÜHMANN (1965),LIPP (1965) und REISNER (1966) in Gewebekulturen je nach Konzentration und Zellart Wachstumsstörungen oder Wachstumsförderungen beobachtet werden.

Eine Sensibilisierung von Gewebekulturen maligner und normaler Zellstämme gegenüber Röntgenstrahlen erreichten PETERS und BAUER (1965) mit Decortin. Über die Wirkung von Testosteron und Progynon auf Kurzzeitkulturen von HeLa-Zellen auch in Kombination mit Röntgenstrahlen berichteten sie 1970, desgleichen FARK (1968), FRÖHLICH (1970) und SCHAARSCHMIDT (1971). Ihre Arbeiten zeigen, daß "durch die Behandlung mit Progynon-B, den Testosteronen Ciba und Schering sowie einer Bestrahlung mit 200 R Röntgen die 7, 2 % Barr-positiven Zellkerne in HeLa-Kulturen zahlenmäßig nicht beeinflußt wurden. Dagegen nahm die Zahl der mittel- und randständigen Chromozentren unter Testosteronbehandlung zu. Eine Kombination von Bestrahlung und Hormonbehandlung führte zu keiner Wirkungssteigerung. Die Abnahme der Gesamtmitosehäufigkeit sowie die Zunahme an pathologischen Mitosen, Zytolysen und Pyknosen, die durch Bestrahlung mit 200 R Röntgen sowie durch alleinige Testosteronbehandlung erreicht wurden, ließen sich durch Kombination beider Noxen signifikant steigern." Außerdem zeigte sich, daß die Wirkung der Testosterone dosisabhängig war.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Testosteron und Bestrahlung auf die Clonbildungsfähigkeit von HeLa-Zellen untersucht. Mit Hilfe dieser Methode, die von PUCK und MARCUS (1956) ent-

wickelt wurde, ist es möglich, chemische und physikalische Wirkungen auf die Zelle über mehrere Generationen zu verfolgen. Zellschädigungen bzw. Reparationsvorgänge, die im Verlaufe von Generationen auftreten, können mit Hilfe variationsstatistischer Analysen erfaßt werden. Vergleichende Untersuchungen mit Kurzzeit-Gewebekulturen (Züchtungsdauer 48 Stunden) unter Verwendung cytologischer Kriterien sind dabei von speziellem Interesse.

Wie in den vorherigen Arbeiten, so wurde auch in dieser Arbeit Testoviron-T-Schering verwendet, mit Propylenglykol als Lösungsvermittler.

Nach Beobachtungen von FRÖHLICH (1970) und SCHAARSCHMIDT (1971) war bei einer Propylenglykolkonzentration von 1 : 100 eine Zunahme der Zytolysen und Pyknosen zu sehen. Bei geringeren Konzentrationen konnte ein Einfluß auf die Teilungsvorgänge der Zellen nicht mehr gesichert werden.

HECKMANN (1965) stellte bei seinen Untersuchungen über die Wirkung des Natriumhydroxyprogesteroncapronats auf das Adenocarcinoma corporis uteri in der Gewebekultur keine toxischen Nebenwirkungen fest, nachdem er Propylenglykol in Konzentrationen von 1 : 100, 1 : 20 und 1 : 10 als Lösungsvermittler verwendet hatte.

So konnte man damit rechnen, daß durch die geringen Konzentrationen des Lösungsvermittlers (1 : 1000) im Medium unserer Versuche die Ergebnisse nicht mehr beeinflußt würden.

In einer Reihe von Vorversuchen (I - V) wurde die Züchtung von Clonen auf einem Rasen von Feederzellen mit einer Clonzüchtungsmethode verglichen, bei der auf den ernährenden Zellrasen verzichtet werden konnte, indem man die Zellen in Konditionsmedium wachsen ließ. Beide Methoden gehen auf Versuche von PUCK et al (1956) zurück, welche in ihren Arbeiten bewiesen, daß ein Stoffwechselprodukte enthaltendes

Konditionsmedium die gleichen Wirkstoffe enthält, welche ein stoffwechselnder Zellrasen abzugeben vermag. Da wir zu ähnlichen Ergebnissen gelangten, wurde in allen weiteren Versuchen auf die Bildung von Feederzellen verzichtet. Es ließ sich dadurch nicht nur der Arbeitsvorgang vereinfachen, auch die abschließende Auswertung der Versuche wurde erleichtert und präzisiert.

In weiteren Versuchen (VI, VII) bestrahlten wir die zur Clonbildung ausgesäten Zellen eine Stunde nach Aussaat der Zellen mit 100, 200, 300 und 400 R Röntgen, um die Wirkung der Bestrahlung auf die Clonbildung zu erkennen. Übereinstimmend mit den Ergebnissen von PUCK und MARCUS zeigte sich, daß mit steigenden Röntgendosen die Clonbildungsfähigkeit der Zellen zunehmend gehemmt wurde. Nach Einwirkung von 400 R Rö waren nur noch wenige Zellen zur Clonbildung fähig.

Wie schon Fröhlich schreibt, ist die Abnahme der Mitosehäufigkeit u. a. Ausdruck einer verminderten Vitalität der explantierten Gewebe. Eine Zelle, welche die Teilungsfähigkeit verloren hat, kann 20-30 Tage in vitro gehalten werden, bevor sie zugrunde geht.

Die Ursache der Mitosehemmung kann man noch nicht erklären. Der Zelltod kann durch eine Chromosomenschädigung ausgelöst werden. Daher liegt der Gedanke nahe, daß auch ein irreversibler Mitosestopp auf einen chromosomalen Defekt zurückgeführt werden kann (WARREN 1947).

Eine andere Theorie besagt, daß das Redoxpotential der SH-Gruppen durch die Bestrahlung gestört wird und die regelrechte Zellteilung verhindere (SANDRITTER u. KRYGIER 1959, ERRERA 1959).

Im ersten Hauptversuch wurde die Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung des Testoviron-T-Schering untersucht.

Die Wachstumshemmung war um so deutlicher, je höher die Hormonkonzentration im Medium war. Während bei einer Verdünnung von

1 : 50 000 000 noch eine 5 %ige Steigerung der Clonbildung zu erkennen war, kam es bei steigenden Hormondosen zu steigenden Wachstumshemmungen. (1 : 5 000 000 = 20 %; 1 : 500 000 = 75 %). Auch SCHAARSCHMIDT erreichte mit höheren Dosen eine Hemmung der Mitosen (1 : 200 000), mit geringeren (1 : 2 000 000 und 1 : 20 000 000) dagegen eine signifikante Steigerung. Während SCHAARSCHMIDT die Frage noch offen läßt, ob es sich bei den schwächeren Hormonkonzentrationen zu einer echten Steigerung der Mitosen kommt oder nur zu einer Verlangsamung des Mitoseablaufes, wird an Hand unserer Versuche deutlich, daß eine Zunahme der gesamten Clonzahl wie auch der Zellzahl pro Clon auf einer echten Mitoseanregung beruhen muß.

Die nach hohen Testosteronkonzentrationen erwähnten morphologisch faßbaren Schädigungen am Kern stehen in direkter Korrelation zur Mitosehemmung (FARK 1968, FRÖHLICH 1970, SCHAARSCHMIDT 1971) und nach vorliegenden Ergebnissen zur herabgesetzten Clonzahl wie Zahl der Zellen pro clon.

Ob die zelltoxischen Effekte der Sexualhormone auf einer Mitosegiftwirkung als solcher beruhen oder Folgen der Wirkung von Abbauprodukten sind, wird noch diskutiert :

Nach Versuchen von LIPP (1965) greifen nur die Metaboliten der Hormone an den Zellen an. Er folgert daraus, daß die Steroidhormone nur dann in vitro als Zellgift verwendet werden können, wenn gleich zeitig ein Abbau der Hormone durch Fermente erfolgt, so daß Metabolite entstehen, die allein oder in Bindung an das Protein cytotoxisch wirken.

DIRSCHEL und DARDENNE (1954) nannten das für den Hormonabbau verantwortliche Ferment Steroidesterase. Es ist hauptsächlich in der Leber angereichert, kommt aber auch in anderen retikuloendothelialen Organen vor (POLONOWSKI 1951).

Nach SCHORMÜLLER (1957) kann der durch Abbau des Hormons ent-

standene Inhibitär direkt oder indirekt wirksam werden, indem er in der Zelle die Synthese von Apo- und Cofermenten unterbindet. Außerdem wurde eine Wirkung der Steroide auf den Gewebestoffwechsel durch Beeinflussung der Permeabilität der Zellwände beschrieben (HAAS 1955).

In unserem zweiten Hauptversuch wurde der Effekt einer kombinierten Behandlung von HeLa-Zellen mit Testosteron und Bestrahlung untersucht. Nach FARK war im Zellbild der Steroideffekt nach kombinierter Behandlung morphologisch nicht faßbar. FRÖHLICH und SCHAARSCHMIDT konnten hingegen zeigen, daß die Abnahme der Gesamtmitosehäufigkeit sowie die Zunahme an pathologischen Mitosen, Zytolysen und Pyknosen, die durch Bestrahlung mit 200 R Rö sowie durch alleinige Testosteron-Behandlung erreicht wurde, sich durch Kombination beider Noxen noch signifikant steigern ließ. Gleichsinnig zu diesen Arbeiten ergaben unsere Auszählungen, daß sich bei kombinierter Behandlung die Wirkungen addieren. Da aus der Dosiseffektkurve keine Steigerung der Strahlenwirkung nach Gabe von Testosteron abzulesen ist, kann nicht von einer Sensibilisierung der Kulturen durch das Hormon gesprochen werden, sondern von einer Schädigung des Kernstoffwechsels, deren Auswirkungen sich zu dem Strahleneffekt addieren.

Lassen sich aus diesen Ergebnissen Folgerungen für die Therapie ziehen ? Leider sind uns nur Tierversuche mit alleiniger Hormonbehandlung bekannt.

YOUNG et al (1965) gelang es, bei Ratten induzierte Mammatumoren zur Rückbildung zu bringen, indem sie den Tieren Androgene gaben. TELLER et al (1966) beobachteten, daß bei Ratten durch 2-α -MDTP (2-α -Methyl-Dihydro-Testosteronpropionat) das Wachstum von induzierten Mammatumoren in 70 % der Fälle gehemmt werden konnte. TP (Testosteronpropionat) führte in 44 % der Fälle zum Erfolg.

GRUENSTEIN et al (1966) konnten das Auftreten von neuen Neoplasmen nach der Ablatio induzierter Mammatumoren an Ratten durch Gabe von

Testosteronpropionat (NSC 9166) und durch Östradiolbenzoat (NSC 9566) vorübergehend verhindern.

Diese Veröffentlichungen stehen im Gegensatz zu den Befunden SHAPIROs (1952), der berichtete, daß Testosteron keinen Einfluß auf das Wachstum von Adenocarcinomen der Mammae bei Mäusen zeige.

Diese unterschiedlichen Ergebnisse lassen sich gegebenenfalls auf die im Tumor zur Wirkung kommenden verschieden hohen Hormonkonzentrationen zurückführen. In diesem Sinne ist unsere Dosiseffektkurve der Hormonwirkung zu interpretieren.

Nicht nur die Ergebnisse der Tierversuche sind widersprüchlich. Auch beim Menschen ist die Frage nach der bestmöglichen Therapie des Brustkrebses noch nicht beantwortet.

Hier unterscheiden wir zwischen zwei großen Fragenkomplexen. Der erste betrifft die Wirkung einer zusätzlich zur operativen Entfernung des Brustkrebses verabfolgten Bestrahlung, die als Vor- oder Nachbestrahlung oder als Vor- und Nachbestrahlung verabfolgt werden kann.

Der zweite Fragenkomplex betrifft die Wirkung einer Behandlung des Mammakarzinoms mit Steroiden, die allein oder zusätzlich zur Bestrahlung angewendet werden kann.

Abschließend möchte ich eine kurze Literaturübersicht über beide Fragen geben.

Ad I) : Beim statistischen Vergleich einer Gruppe von vorbestrahlten, operierten und nachbestrahlten Patientinnen mit einem Krankengut, das nur nach der Operation bestrahlt worden war, stellte BEYER (1968) bei den nur nachbestrahlten Frauen eine höhere Fünf-Jahres-Überlebensrate fest als bei den vor- und nachbestrahlten Patientinnen. GUMMEL und WIDOW (1964) lehnten die Vorbestrahlung ebenfalls ab mit der Begründung, die Prognose werde schon vor Beginn der Behandlung durch die biologische Wertigkeit der Geschwulst bestimmt. Ebenfalls gegen die Vorbestrahlung sprachen sich auch MOSS (1964) und

MUNTEAN (1966) aus.

Demgegenüber fanden BERGONZINI et al. (1963) beim Vergleich von Operationspräparaten mit Biopsiematerial, das vor der Bestrahlung entnommen worden war, eine deutliche Verminderung der neoplastischen Komponente : sie beschrieben Zeichen starker Schädigung an den Karzinomzellen - im Cytoplasma war Vakuolenbildung festzustellen, am Kern konnten sie Pyknosen und Chromatolysen sehen.

BIRKNER und BOECK (1965/1966) berichteten ebenfalls von lichtmikroskopisch sichtbaren Schädigungen der Tumorzellen nach Vorbestrahlung. Im Hinblick auf das chirurgische Vorgehen sind die Verkleinerung des Tumors und die Devitalisierung der malignen Zellen durch die praeoperative Bestrahlung von Bedeutung.

Eine massive Abnahme der neoplastischen Komponente im Zellbild von Lymphknotenmetastasen nach Vorbestrahlung wurde von KOSZAROWSKI et al (1965) beobachtet.

In direktem Widerspruch zu der oben erwähnten Statistik von BEYER (1968) stehen die Angaben von MELNITZKY (1965) : er beschrieb einen Anstieg der Fünf-Jahres-Überlebensrate; auch eine Verminderung der Lokalrezidive und der Metastasierung konnte er nach Vorbestrahlung erreichen.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam JAEGER (1965) : 15 bis 20 von 100 unbehandelten Patientinnen überlebten 5 Jahre; 35 % der operierten Patientinnen überlebten diesen Zeitraum; Operation und Nachbestrahlung erhöhten die Fünf-Jahres-Überlebensrate auf 45 %; nach seiner Statistik stellte sich der beste Behandlungserfolg nach Vorbestrahlung, Operation und Nachbestrahlung ein - 55 % der so intensiv behandelten Frauen überlebten 5 Jahre.

DOMARIG (1965) wies an Hand eigener Statistiken nach, daß sowohl die Überlebenszeit als auch die Komplikationsrate - vor allem das Auftreten von Implantationsmetastasen - durch die Vorbestrahlung des

Mammakarzinoms günstig zu beeinflussen ist.

DRAGONI (1964) berichtete von ähnlichen Erfahrungen; außerdem wies er darauf hin, daß nach Vorbestrahlung primär inoperable Mamma-Tumoren noch operiert werden konnten.

DELARUE et al (1965) sehen in der Vorbestrahlung einen prognostisch günstigen Faktor, obwohl sie sich bewußt sind, daß auf der Höhe der Strahlenreaktion die Zahl der im Blut kreisenden Karzinomzellen verdoppelt ist; sie haben die Erfahrung gemacht, daß diese Einschwemmung von Tumorzellen bei weitem aufgewogen wird durch die Vitalitätsminderung der Zellen durch die Strahlenwirkung.

Nach Auffassung von OESER und ALBRECHT können sich Operation und Bestrahlung "bei der Behandlung des Mammakarzinoms gegenseitig ersetzen oder ergänzen - aber keinesfalls in der Weise, daß die Kombination von Operation und Bestrahlung deren mögliche Einzelleistungen addiert ... Für die Strahlenanwendung bedeutet dies : Die praeoperative Bestrahlung ist imstande, die Operabilität zu erleichtern ... Die postoperative Bestrahlung wird wertvoll, wenn es der chirurgischen Behandlung an Radikalität mangelte" (1965).

Die Bestrahlung nach Mammaamputation ist viel weniger umstritten. ROBBINS et al. (1966) konnten zwar keinen Einfluß auf die Fünf-Jahres-Überlebensrate ihrer Patientinnen feststellen, doch das Auftreten von Metastasen im supraclaviculären Bereich konnte durch prophylaktische Bestrahlung dieser Region verzögert werden.

Nach einer Statistik von WATSON (1967) ließ sich die Überlebenszeit seiner Patientinnen durch prophylaktische Nachbestrahlung verlängern.

Eine Senkung der Rezidivquote und der Fernmetastasierung von 66 % auf 40 % fand FRIDRICH (1965). Nach Angaben von BECHER (1967) lassen sich die Behandlungsergebnisse durch Anwendung schneller Elektronen bei der prae- und bei der postoperativen Bestrahlung verbessern.

ROSNER (1965) konnte die Drei-Jahres-Überlebensrate durch Gabe von radioaktivem Phorsphor um 15 % heben; besonders deutlich war der Einfluß auf Knochenmetastasen.

Die Fülle von Angaben zum Thema der Strahlenbehandlung beim Mammakarzinom ist verwirrend. Vor allem bei den Angaben über den Einfluß von Bestrahlung auf die Überlebenszeit fällt die Widersprüchlichkeit der Befunde auf. Diese Unstimmigkeiten sind wohl zu erklären durch die große Zahl der Faktoren, die die Nebenwirkungen der Strahlenbehandlung auf den Gesamtorganismus bestimmen.

Ad. 2) : BUCHANAN (1966) und McKAY (1965) beobachteten übereinstimmend, daß Schwangerschaft und Stillzeit die Prognose bei Mammakarzinom verschlechtern. Dies mußte als Hinweis auf eine - wenigstens teilweise bestehende - Hormonabhängigkeit des Tumorwachstums gewertet werden.

BERNDT und LATTERMANN (1969) beobachteten, daß sehr häufig Erkrankungen der Schilddrüse oder des Ovars der Manifestation des Mammakarzinoms vorausgehen. Sie sehen darin einen Hinweis auf Zusammenhänge zwischen übergeordneten endokrinen Regulationsstörungen und Geschwulstentstehung in der Mamma.

Diese Beobachtungen und entsprechende theoretische Überlegungen führten zu neuen Therapieversuchen, die auf eine Beeinflussung der Geschwulst abzielten durch Eingriffe in die endokrine Regulation : Patientinnen wurden kastriert, operativ oder medikamentös adrenalektomiert und auch hypophysektomiert (HORTLING 1965) :

REYNOLDS (1967) konnte die Wachstumsgeschwindigkeit des malignen Gewebes im Fall eines Rezidivs durch Ovarialbestrahlung günstig beeinflussen. Nach seiner Erfahrung ließen sich durch prophylaktische Kastration noch bessere Ergebnisse als nach therapeutischer Kastration erzielen.

Nach BERNDT (1964) entsprechen die bisher vorgelegten Erfahrungsberichte "zwar alle nicht den notwendigen methodischen Forderungen. Trotzdem haben sie bewiesen, daß die prophylaktische Kastration die Überlebensrate erhöhen, ... das Intervall zwischen Behandlung und Wiedererkrankung verlängern kann."

Er führte diesen Effekt auf das Fehlen des oestrogenen Wachstumsstimulus für die metastasierenden Zellen zurück.

Der günstige Effekt der primären Ovarbestrahlung bei Frauen nach der Menopause, die noch nicht älter sind als 70 Jahre, ist nach Angaben von NISSEN-MEYER (1965) hochsignifikant. Er vermutete, daß die Verhältnisse in anderen Altersgruppen ähnlich lägen - konnte sie jedoch noch nicht genau erfassen.

Nach LALANNE und seinen Mitarbeitern (1967) konnte durch Kastration die Drei-Jahres-Überlebensrate von 57 % auf 73 % gesteigert werden.

Neben der Kastration wird bei der Palliativbehandlung des Mammakarzinoms auch die Adrenalektomie durchgeführt :

CADE (1966) erreichte durch Adrenalektomie in 50 % der Fälle eine weitgehende Rückbildung der Metastasen.

SCHWARZ (1964) kombinierte Oophorektomie mit chemischer Adrenalektomie (2, 5 mg bis 3, 0 mg Dexamethason/ die) und erreichte damit bessere Ergebnisse als bei alleiniger Kastration.

Signifikante Regression der Metastasen der Haut, des Skeletts, der Pleura und der Lunge nach bilateraler Adrenalektomie und Eierstocksexstirpation beschrieben PROHASKA et al (1966).

Zentral kann man die Hormonbildung durch Hypophysenblockade stören: Schnelle Schmerzremission beobachteten KLEINERT et al (1967) nach Implantation von Radiogold in die Hypophyse. WENSE (1969) machte mit radioaktivem Yttrium (^{90}Y) dieselbe Erfahrung.

Statistisch faßbare Erfolge dieses Verfahrens beschrieben FEINLEIB et al. (1968).

KENNEDY (1965) erreichte auf diese Art noch Remissionen in Fällen, die mit Östrogen oder Testosteron vorbehandelt waren.

Nicht nur durch Störung der Hormonproduktion kann die endokrine Regulation beeinflußt werden, auch durch Zufuhr von Hormonen läßt sich die Palliativbehandlung des Mammakarzinoms ergänzen (Du MESNIL De ROCHEMENT und HESS, 1965) :

Nach Erfahrungen von KAUFMANN et al (1965) und WILKENING (1965) hat die Hormontherapie bei Mammakarzinom einen positiven Einfluß auf die Überlebenszeit.

Schon 1952 berichtete BAUER, daß sich durch Gabe von Androgenen das Wachstum von Primärtumor und Metastasen bei Mammakarzinom günstig beeinflussen lasse.

KENNEDY (1965) konnte durch Oestrogengabe bei Frauen mit Mammakarzinom in der Menopause in 29 % der Fälle Remissionen erzielen; auf Testosterongabe sprachen 10 % der Patientinnen an.

Nach Statistiken von KOLODZIEJSKA und GLINSKA (1965) wurde durch Gabe von Stilboestrol in 41, 4 % der Kranken eine objektiv faßbare Besserung erzielt; subjektiv gaben 63, 8 % der Patientinnen eine Besserung an. Nach Gabe von Cortison sah man bei 50 % der Fälle einen objektivierbar positiven Einfluß, 82 % der Frauen fühlten sich wohler. Mit Testosteron war bei 31, 8 % der Untersuchten eine objektiv faßbare Remission zu erreichen, subjektiv fühlten sich 85, 4 % der Patientinnen wohler. Unterschiede zwischen den Überlebenszeiten behandelter und unbehandelter Frauen konnten von diesen Autoren nicht statistisch gesichert werden.

Demgegenüber fanden GREGL und POPPE (1967) nach heterosexueller Behandlung um jeweils ca. 18 % höhere Drei-Jahres-, Fünf-Jahres-

und Zehn-Jahres-Überlebensraten als bei unbehandelten Patientinnen.

RIESSBECK (1965) kombinierte Gaben von Anabolica mit cytostatischer Behandlung und erreichte so einen Stillstand des Tumorwachstums und oft eine Regression.

In 70 % bis 90 % der Fälle erreichte WALTON (1965) Schmerzlinderung durch gleichzeitige Gabe von gegengeschlechtlichem Hormon und (^{32} P) radioaktivem Phosphor.

WATSON und TURNER (1966) behandeln bevorzugt mit Thiotepa, einer alkylierenden Substanz, in Kombination mit Testosteron oder Durabolin. Bei diesem Behandlungsschema kann sich nach ihrer Erfahrung der Operateur auf eine "minimale chirurgische Therapie" beschränken.

Als die Geschwulst durch Gabe von androgenen Corticoiden und durch Kombination von Testosteronpropionat mit Cytostatika nicht mehr zu beherrschen war, erzielten HOLECEK et al. (1967) eine weitere Remission, indem sie anstatt des natürlichen Hormons synthetisches Phenylpropionat verordneten.

Diesen Befürwortern der heterosexuellen Behandlung stehen Autoren gegenüber, die ein rascheres Wachstum der Geschwulst nach Gabe von Androgenen beobachteten und daher dieses Vorgehen rundweg ablehnen. (BOHLE, BÜRGER, FISCHBACH und SCHÖLL, 1965).

Da ein Teil der Patientinnen auf die Behandlung mit gegengeschlechtlichem Hormon gut anspricht, bei einem anderen Teil aber ein gegenteiliger Effekt eintritt - SCHWARZ (1964) unterscheidet hormonempfindliche und sogenannte autonome Karzinome- bemühten sich verschiedene Autoren um Kriterien, die die Prognose einer Hormontherapie bestimmen sollten. BOHLE et al. (1964),REGELE (1964), REGELE et al. (1964), MEIER-RUGE und KALLENBERGER (1967), EHLERS (1960) und EHLERS et al. (1958/1964) beobachteten bei Barr-positiven Tumoren ein besseres Ansprechen auf die heterosexuelle Behandlung

als bei Barr-negativen Mammakarzinomen. Diese Angaben wurden im Prinzip bestätigt durch statistische Erhebungen von WANKE, GRAF und MARZOLI (1960), REGELE et al. (1961), KENK und BACIC (1962), REGELE et al. (1964) und LORBECK (1965).

Nach v. SEEBACH und MÜLLER (1966) und nach LÜCHTRATH et al. (1969) können jedoch aus dem Fehlen oder Vorkommen Barr' scher Kernkörperchen keine Konsequenzen auf die Prognose und die Therapie gezogen werden.

Will man die Ergebnisse unserer Versuche auf die Therapie übertragen, so sprechen sie für eine Kombination von Bestrahlung und Hormongabe. Auch die alleinige Applikation von Testoviron-T-Schering hatte in bestimmten Dosisbereichen einen wachstumshemmenden Effekt.

Wesentlich bei der Behandlung ist aber die im Tumor selber zur Wirkung kommende Hormonkonzentration. Da schwache Konzentrationen eine echte Zellteilungsanregung bedeuten (s. Seite 7), dagegen mit steigender Dosis zunehmende Mitosehemmung ausgelöst wird, wird die Notwendigkeit einer Bestimmung der im Tumor vorhandenen Hormonmenge deutlich. In der Gewebekultur ist diese Dosierung sehr einfach. Sie entscheidet über Erfolg oder Mißerfolg bei der Therapie.

In unserer Diskussion wurde bewußt nicht auf die psychischen Probleme eingegangen, die bei heterosexueller Behandlung entstehen. Abzuwägen, welche Behandlung angewandt werden sollte, muß dem behandelnden Arzt überlassen bleiben.

Zusammenfassung

Mit steigenden Röntgendosen wurde die Clonbildungsfähigkeit von HeLa-Zellen zunehmend gehemmt. (100, 200, 300 und 400 R Rö).

Testoviron-T-Schering regte bei einer Konzentration von 1 : 50 000 000 die Clonbildung geringfügig an (5 %). Diese Anregung bestand in einer Zunahme der Clonzahl wie der Zahl der Zellen pro Clon.

Bei Konzentrationen von 1 : 5 000 000 wurde die Clonbildung dagegen um 20 % und bei 1 : 500 000 um 75 % gehemmt. Das bedeutet zunehmende Hemmung mit steigender Konzentration. Sie steht in Korrelation zur Mitosehemmung und zu morphologisch faßbaren Schädigungen am Kern.

Bei einer Kombination von Röntgenbestrahlung (100, 200, 300 und 400 R Rö.) mit Gaben von Testoviron in Konzentration von 1 : 5 000 000 addierten sich die Wirkungen beider Noxen. Da aus der Dosiseffektkurve keine Steigerung der Strahlenwirkung nach Gaben von Testoviron abzulesen ist, kann nicht von einer Sensibilisierung der Kulturen durch das Hormon gesprochen werden, sondern von einer Schädigung des Kernstoffwechsels, deren Auswirkungen sich zu dem Strahleneffekt addieren.

Die im Tierversuch sowie bei der Behandlung des Mammacarcinoms beim Menschen vorkommenden unterschiedlichen Wirkungen einer heterosexuellen Behandlung lassen sich gegebenenfalls auf die verschieden hohen Hormonkonzentrationen zurückführen, die im Tumor zur Wirkung kommen.

Literaturverzeichnis

1) Barr, M. L. u. E. G. Bertram : A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis.
Nature (Lond.) 163, 676 (1949)

2) Bauer, R. : Zur Frage der prophylaktischen Behandlung des Brustkrebses.
Strahlentherapie 87, 59 - 62 (1952)

3) Becher, R. : Prä- und postoperative Strahlenbehandlung des Mammakarzinoms. Erfahrungsbericht über 287 Fälle.
Med. Klinik 62, 724 - 727 (1967)

4) Bergonzini, R., D. de Maria, G. P. Mazzoleni u. G. Dedola : Osservazioni anatomo-microscopiche e cliniche in tema di telecobaltoterapia pre-operatoria dei carcinomi della mammella e del retto.
Minerva chir. (Torino) 18, 1127-1133 (1963)

5) Berndt, H. : Prophylaktische Kastration beim Brustkrebs.
Münch. Med. Wschr. 106, 1884 - 1892 (1964)

6) Berndt, H. u. K. Lattermann : Mammakarzinom und Menopause
Arch. f. Geschwulstforsch. 33, 55 - 65 (1969)

7) Beyer, U. u. L. : Probleme und Ergebnisse der Behandlung des Mammakarzinoms.
Zbl. Chir. 93, 1497 - 1503 (1968)

8) Birkner, R. u. M. Boeck : Die primäre Telekobaltbestrahlung von Tumoren der weiblichen Brustdrüsen.
Röntgenblätter 18, 569 - 572 (1965)

9) Birkner, R. u. M. Boeck : 5 Jahre primäre Telekobaltbestrahlung von Tumoren der weiblichen Brust.
Strahlentherapie 131, 79 - 90 (1966)

10) Bohle, A., E. Bürger, M. Fischbach u. A. Schöll : Die Bedeutung der Barr' schen Körperchen beim Mammakarzinom.
Langenbecks Arch. f. klin. Chir. 313, 392 - 399 (1965)

11) Bohle, A., F. Groß, W. Mahringer u. H. Trebbin : Zur Bedeutung der Barr' schen Zellkernkörper beim Brustkrebs der Frau.
Dtsch. med. Wschr. 89, 1215 - 1217 (1964)

12) Buchanan, E. B. : Cancer of the breast. One surgeon' s experience.
Amer. J. Surg. 112, 879 - 887 (1966)

13) Bullough, W. S. : The mitogenic actions of starch and oestrone on the epidermis of the adult mouse.
J. Endocrinology 6, 340 - 349 (1950)

14) Cade, S. : Adrenalectomy for disseminated breast cancer.
Brit. Med. J. 1966, II, 613 - 615 (1966)

15) Delarue, N. C., C. L. Ash, V. Peters u. R. Fielden: Preoperative irradiation of locally advanced breast cancer.
Arch. Surg. 91, 136 - 154 (1965)

16) Dirschel, W. u. U. Dardenne : Spaltung von Steroidhormonestern durch menschliche und tierische Organe. 42. Mitt. über Sexualhormone, Steroide und Sterine. Biochem. Zschr. 325, 195 - 209 (1954)

17) Domarig, E. : Zum Problem der Vorbestrahlung des Brustdrüsenkarzinoms. Krebsarzt 20, 83 - 86 (1965)

18) Dragoni, G. : La radioterapia pre-operatoria del carcinoma mammario. Minerva med. 55, 3810 - 3819 (1964)

19) Du Mesnil, R. de Rochemont u. F. Hess : Der gegenwärtige Stand der Strahlentherapie des Brustkrebses. Magy. Radiol. 17, 330 - 336 (1965)

20) Ehlers, P. N. : Über die Unterscheidung des Mammakarzinoms nach dem zellkernmorphologischen Geschlecht. Langenbecks Arch. f. klin. Chir. 295, 940 - 943 (1960)

21) Ehlers, P. N. u. H. A. Hienz : Zellmorphologisches Geschlecht und hormonelle Beeinflußbarkeit des Mammakarzinoms. Langenbecks Arch. f. klin Chir. 288, 485 - 498 (1958)

22) Ehlers, P. N., M. Nuri u. C. Hochberg : An der Chirurgischen Universitätsklinik Heidelberg gesammelte Erfahrungen in der Behandlung des Mammakarzinoms unter besonderer Berücksichtigung des Sexchromatins. Wien. klin. Wschr. 76, 870 - 871 (1964)

23) Errera, M. : The Cell, Vol. I
Academic Press N. Y. London (1959)

24) Fark, H. : Untersuchungen über den Einfluß von gegengeschlechtlichen Hormonen mit und ohne Strahlenbehandlung sowie gleichgeschlechtlichen Hormonen auf die Häufigkeit von Barr' schen Körpern, Chromozentren, Amitosen, Kernknospungen und Kernfragmentationen an Krebszellen (Stamm HeLa) in vitro.
Med. Dissertation, 1968, Tübingen

25) Feinleib, M. : Breast cancer and artificial menopause.
A cohort study.
J. Nat. Cancer Inst. 41, 315 - 329 (1968)

26) Fridrich, R. : Zur postoperativen Bestrahlung des Mammakarzinoms mit Röntgen-Telekobalt.
Radiol. austriaca 15, 219 - 224 (1965)

27) Fröhlich, K. -H. : Untersuchungen über die Wirkung von Testosteron, Rö-Strahlen und kombinierter Anwendung von Steroid und Bestrahlung auf weibliche Karzinomzellen (Stamm HeLa)
Med. Dissertation, 1970, Tübingen

28) Gey, G. O., W. D. Coffman u. M. T. Kubicek : Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium.
Cancer Res. 12, 264 - 265 (1952)

29) Gregl, A. u. H. Poppe : Heterosexuelle Behandlung des Mammakarzinoms. Erfahrungen der Chirurgischen und Radiologischen Universitätsklinik Göttingen.
J. Radiol. Electrol. 48, 792 - 795 (1967)

30) Gropp, H. u. U. Wolf : Über den cytogenetischen Zusammenhang zwischen Sexchromatin und Chromosomenstatus beim Mammakarzinom.
Langenbecks Arch. f. klin. Chir. 313, 400 - 405 (1965)

31) Gropp, H., U. Wolf u. F. Pera : Untersuchungen über das Geschlechtschromatin und den zugrundeliegenden Chromosomenstatus beim Mammakarzinom.
Wien. klin. Wschr. 76, 863 - 869 (1964)

32) Gruenstein, M., D. Thatcher, M. Acuff u. B. Shimkin : Effect of surgery, hormones and nutrition on mammary cancer induced by 3-methylcholanthrene in female Wistar rats.
Cancer Res. 26, 579 - 586 (1966)

33) Gummel, H. u. W. Widow : Zur präoperativen Bestrahlung des Brustdrüsenkrebses.
Zbl. Chir. 89, 1473 - 1480 (1964)

34) Haas, J. : Physiologie der Zelle.
Gebr. Bornträger, Berlin, 1955

35) Hanschke, H. J., K. König u. W. Caspar : Spätergebnisse der Behandlung des Prostatakarzinoms.
Dtsch. med. Wschr. 93, 2271 - 2274 (1968)

36) Heckmann, U. : Zur Wirkung des Norhydroxyprogesteroncapronat auf das Adenocarcinoma corporis uteri in der Gewebekultur.
Dtsch. med. Wschr. 90, 2328 - 2330 (1965)

37) Holecek, V., J. Lhotka u. Z. Borek : Experience with the hormonal therapy and prevention of generalisation of mammary cancer.
Sborn. lék. 69, 243 - 250 (1967)

38) Hortling, H. : The endocrine treatment of metastatic breast cancer.
Geriatrics 20, 51 - 60 (1965)

39) Jaeger, W. : Mammatumoren. Ergebnisse 1946 bis 1958.
Radiobiol. Radiother. 6, 743 - 746 (1965)

40) Kaufmann, R. J., F. C. H. Chu u. G. C. Escher : The effect of radiation therapy on the survival time of women with recurrent mammary carcinoma.
Amer. J. Roentgenol. 93, 600 - 606 (1965)

41) Kennedy, B. J. : Hormone therapy for advanced breast cancer.
Cancer 18, 1551 - 1557 (1965)

42) Kleinert, K., M. Kirsch, E. Schumann u. W. Usbeck : Zur Palliativtherapie bei generalisierter Metastasierung des Mammakarzinoms mit Hypophysenblockade durch Radiogold-Seed-Implantation.
Strahlentherapie 132, 200 - 205 (1967)

43) Kolodziejska, H., u. H. Glińska : The value of steroid hormone therapy in patients with breast cancer.
Radiobiol. Radiother. 6, 211 - 213 (1965)

44) Koszarowski, T., A. Madejczyk u. D. Gaijl : The results of treatment in breast cancer with X-ray irradiation followed by radical operation according to Halsted.
Radiobiol. Radiother. 6, 177-183 (1965)

45) Lalanne, C. M., P. Juret, F. Hourtoule und D. Sarazzin : La castration dans le cancer du sein : chirurgie ou radiation.
Ther. Phys. Biol. 6, 323 - 334 (1967)

46) Lipp, R. : Die Wirkung der Sexualhormone auf embryonale Gewebe vom Huhn "in vitro".
Port. Acta biol. 9, 1 - 108 (1965)

47) Lorbeck, W. : Gezielte Rezidivprophylaxe beim Mammakarzinom mit Hormonen.
Langenbecks Arch. f. klin. Chir. 313, 408-410 (1965)

48) Lüchtrath, H., H. v. Essen, V. Schmitz-Formes u. J. Weis : Barr' sche Körperchen und Tumorgeschlecht beim Mammakarzinom.
Strahlentherapie 137, 128 - 136 (1969)

49) Mauss, H.J. u. H.A. Künkel : Über die Wirkung der gynäkologischen Strahlenbehandlung auf die Erythropoese.
Strahlentherapie, Sonderband 55, 95 - 99 (1964)

50) Mc Kay, E.N. u. A.H. Sellers : Breast cancer at the Ontario cancer clinics, 1938 till 1956 : a statistical review.
Canad. med. Ass. J. 92, 647 - 651 (1965)

51) Meier-Ruge, W. u. A. Kallenberger : Das Mammakarzinom in seiner Relation zum pathologisch-anatomischen Bild und Sexchromatingehalt.
Med. Welt 14, 871 - 875 (1967)

52) Melnitzky, F. : Die Strahlentherapie des Mammakarzinoms. Strahlentherapeutische Übersicht. Radiol. austriaca 15, 177 - 184 (1965)

53) Möllendorff, W. v. : Zur Analyse des pathologischen Wachstums hervorgerufen durch Choralhydrat, Geschlechtshormone und cancerogene Kohlenwasserstoffe. Z. f. Zellforsch. 29, 706 - 749 (1939)

54) Möllendorff, W. v. : Fortgesetzte Untersuchungen über den Einfluß von Kohlenwasserstoffen und Steroiden auf das Wachstum. Z. f. Zellforsch. 32, 35 - 82 (1943)

55) Moss, W. T. : Definitive Radiation therapy for carcinoma of the breast. Radiology 83, 268 - 271 (1964)

56) Muntean, E. : Zur präoperativen Röntgenbestrahlung des Mammakarzinoms. Fortschr. Röntgenstr. 104, 546 - 553 (1966)

57) Nissen-Meyer, R. : Castration as part of the primary treatment for operable female breast cancer. A statistical evaluation of clinical results. Acta radiobiol. Suppl. 249 (1965)

58) Nissen-Meyer, R. : The role of prophylactic castration in the therapy of human mammary cancer. Europ. J. Cancer 3, 395 - 403 (1967)

59) Oeser, H. u. A. Albrecht : Operation und/oder Bestrahlung zur Behandlung des Mammacarcinoms. Langenbecks Arch. f. klin. Chir. 311, 1 - 11 (1965)

60) Peters, K. : Untersuchungen über die Einwirkung von Elektronenstrahlen auf Karzinomzellen (Stamm HeLa) in Gewebekulturen. Fortschr. a. d. Gebiete der Röntgenstrahlen und der Nuclearmedizin 88, 50-60 (1958)

61) Peters, K. u. R. Bauer : Experimentelle Untersuchungen an HeLa-Zellen nach getrennter und kombinierter Anwendung von Decortilen und Röntgenstrahlen. Strahlentherapie 128, 577 - 585 (1965)

62) Peters, K. u. R. Bauer : Untersuchungen an HeLa-Zellen nach getrennter und kombinierter Anwendung von Steroiden und Röntgenstrahlen. Strahlentherapie 139, 43 - 50 (1970)

63) Polonowski, M. : Medizinische Biochemie. Haug, Berlin 1951.

64) Prohaska, J. V., E. Houttuin u. V. Kocandrle : Mammary carcinoma metastases. Response to bilateral adrenalectomy and oophorectomy. Arch. Surgery 91, 530 - 536 (1966)

65) Puck, T. u. P. I. Marcus : Action of X-rays on mammalian cells. J. of Exp. Med. 103, 653 - 666 (1956)

66) Regele, H. : Zur Frage des Sexchromatins im Mammakarzinom. Chirurg 35, 316 - 318 (1964)

67) Regele, H., F. Kaufmann, W. Verderber u. H. Wasl : Erfahrungen mit Sexchromatin und Hormontherapie beim Mammakarzinom. Wien. klin. Wschr. 76, 871 - 873 (1964)

68) Regele, H., H. Vagacs, B. Blümel u. G. Turcic : Zur Frage des Geschlechtsdimorphismus der Tumorzellen beim Mammakarzinom.
Wien. klin. Wschr. 73, 649 - 654 (1961)

69) Reisner, E.H. : Tissue culture of bone marrow. II. Effect of steroid hormones on hematopoiesis in vitro.
J. of Hematology 27, 460 - 469 (1966)

70) Reynolds, M.W. : Carcinoma of the breast : a review of clinical and laboratory examinations relating to treatment policy.
Clin. Radiol. 18, 183 - 187 (1967)

71) Riessbeck, K.H. : Die Hormontherapie des fortgeschrittenen Mammakarzinoms in der Universitäts-Geschwulstklinik der Charité.
Radiobiol. Radiother. 6, 214 - 219 (1965)

72) Rivera, E.M., J.J. Elias, H.A. Bern, N.R. Napalkov u. D.R. Pitelka : Toxis effects of steroid hormones on Organ cultures of mouse mammary tumours. With a comment on the occurence of viral inclusion bodies.
J. Nat. Cancer Inst. 31, 671 - 687 (1963)

73) Robbins, G.F., J.C. Lucas, A.A. Fracchia, J.H. Farrow u. F.C.H. Chu : An evaluation of postoperative prophylactic radiation therapy in breast cancer.
Surg. Gynec. Obstet. 122, 979-982 (1966)

74) Rosner, D. : Protection de l'intervention chirurgicale et prophylaxie des métastases à l'aide de petites doses de phosphore radio-actif (32_P) dans le cancer du sein. J. Radiol. Electrol. 46, 841-846 (1965)

75) Rühmann, A. G. u. D. L. Berliner : Effect of steroids on growth of mouse fibroblasts in vitro
Endocrinology 76, 916 - 927 (1965)

76) Sandritter, W. u. A. Krygier : Cytophotometrische Bestimmungen von proteingebundenen Thiolen in der Mitose und Interphase von HeLa-Zellen.
Z. Krebsforsch. 62, 596 - 608 (1959)

77) Schaarschmidt, R. : Zur Frage der Wirkung von Steroiden (Testosteron-Ciba u. Testosteron-Schering) auf in vitro gezüchtete Portiokarzinomzellen (Stamm HeLa).
Med. Dissertation, 1971, Tübingen.

78) Schormüller, J. : Fermenthemmung als Prinzip toxischer Wirkungen, 1. Teil : Grundlagen; Metabolite als Inhibitoren, Protein- und Hormonantagonisten.
Z. f. Lebensmittelunters. (München) 106, 372 - 395 (1957)

79) Schwarz, K. : Die endokrine Behandlung des Mamma-Ca.
Münchn. Med. Wschr. 106, 1879 - 1884 (1964)

80) Seebach, H. B. v. u. H. A. Müller : Barrkörperchen und Chromatinstrukturen in benignen und malignen Mammatumoren.
Z. f. Krebsforsch. 68, 25 - 41 (1966)

81) Shapiro, D. M. : Combinationchemotherapy with 8-azaguanine and sex hormones on a mouse mammary car inoma.
Cancer Res. 12, 713 - 715 (1952)

82) Teller, M.N., C.C. Stock u. M. Bowie : Effects of 17α - thioestradiol, 2 estradiol analogs and 2 androgens on 7, 12-di-methylbenzanthracene-induced rat mammary tumours.
Cancer Res. 26, 2329 - 2333 (1966)

83) Walton, R.J. : Palliative treatment of osseous metastases from carcinoma of the breast and carcinoma of the prostate with radioactive phosphorus and testosterone.
J. Canad. Ass. Radiol. 16, 213 - 216 (1965)

84) Wanke, R., R. Graf u. G. P. Marzoli : Grundsätzliches zur endokrinen Chirurgie und Therapie maligner Tumoren.
Langenbecks Archiv f. klin. Chir. 295, 96 - 101 (1960)

85) Warren, S. : Mechanism of Radiation Effects against malignant tumours.
J. Amer. Med. Ass. 133, 462 - 463 (1947)

86) Watson, G.W., R. L. Turner : Breast cancer. Five year results with chemotherapy.
Chemotherapia 11, 261 - 269 (1966)

87) Watson, T.A. : Can survival be increased by postoperative irradiation following radical mastectomy ?
J. Amer. Med. Ass. 200, 136-137 (1967)

88) Wense, G. : Ergebnisse der Radiohypophysektomie beim metastasierenden Mammakarzinom unter Berücksichtigung des Geschlechtschromatins.
Langenbecks Arch. f. klin. Chir. 323, 339-344 (1969)

89) Wilkening, K. : Beitrag zur postoperativen Bestrahlung des Mammakarzinoms.
Strahlentherapie 127, 27 - 38 (1965)

90) Young, S., R.A. Baker und J.E. Helfenstein : The effects of androgens on induced mammary tumours in rats.
Brit. J. Cancer 19, 155 - 159 (1965)

Lebenslauf

Ich, Helmut K a p p, wurde am 21. 4. 1948 in Tübingen als Sohn des Buchbindermeisters Wilhelm Kapp und seiner Ehefrau Johanna geb. Schick geboren.

Im Jahre 1953 verstarb meine Mutter. 2 Jahre später heiratete mein Vater Dr. med. Lore geb. Schnell.

Nach dem Besuch der Grundschule in meiner Heimatstadt legte ich im Frühjahr 1959 die Aufnahmeprüfung am Kepler-Gymnasium Tübingen ab. Im Juni 1967 legte ich an dieser Schule die Reifeprüfung ab.

Nachdem ich in den Sommermonaten dieses Jahres mein Krankenpflegepraktikum abgeleistet hatte, konnte ich im Oktober 1967 das Medizinstudium an der Universität Tübingen aufnehmen.

Im März 1970 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab. Während der folgenden Semester arbeitete ich am Med. Strahleninstitut der Universität Tübingen unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. K. W. Peters an meiner Dissertation.

Von Anfang Oktober 1971 bis Ende März 1972 war ich Student an der Medical School der University of Leeds (Großbritannien). Danach kehrte ich nach Tübingen zurück.

Dort legte ich am 31. 7. 1973 die ärztliche Prüfung ab.